

Titer Antibodi Ayam Kampung yang Diberikan Jamu Daun Ashitaba (*Angelica keiskei*) Menurun Pascavaksinasi Penyakit Tetelo

(ANTIBODY TITER OF KAMPONG CHICKEN TREAT WITH ASHITABA LEAF (*ANGELICA KEISKEI*) HERBAL DECREASE AFTER NEWCASTLE DISEASE VACCINATION)

Putu Oka Widyaningsih¹,
I Wayan Sudira², Ida Bagus Kade Suardana³

¹Mahasiswa Pendidikan Sarjana Kedokteran Hewan,
²Laboratorium Fisiologi, Farmakologi dan Farmasi Veteriner,
³Laboratorium Virologi Veteriner,
Fakultas Kedokteran Hewan, Universitas Udayana,
Jl. Sudirman, Sanglah, Denpasar, Bali, Indonesia 80234;
Telp/Fax: (0361) 223791
e-mail: okawidyaningsih09@gmail.com

ABSTRAK

Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui efek pemberian jamu daun ashitaba (*Angelica keiskei*) terhadap titer antibodi penyakit tetelo atau *Newcastle Disease* pada ayam kampung (*Gallus domesticus*). Objek penelitian sebanyak 25 ekor ayam kampung jantan yang dipelihara sejak umur 1-35 hari dengan lima perlakuan, yaitu: satu perlakuan kontrol tanpa diberikan jamu dan empat perlakuan diberikan jamu dengan dosis 50 mg per ekor/hari; 100 mg per ekor/hari; 200 mg per ekor/hari; dan 400 mg per ekor/hari. Vaksinasi penyakit tetelo atau ND aktif La Sota dilakukan pada hari ke 21. Serum diambil sebanyak tiga kali, yaitu: pravaksinasi (umur 18 hari), minggu ke-1, dan minggu ke-2 pascavaksinasi untuk uji hemaglutinasi dan uji hambatan hemaglutinasi. Hasil rerata titer antibodi ND pada ayam kampung yang diberikan jamu dosis 50 mg per ekor/hari; 100 mg per ekor/hari; 200 mg per ekor/hari; dan 400 mg per ekor/hari adalah $5,00 \pm 3,80$ HI log₂; $4,27 \pm 3,31$ HI log₂; $4,07 \pm 3,63$ HI log₂; $3,67 \pm 2,35$ HI log₂; dan $3,73 \pm 2,89$ HI log₂. Hasil penelitian diperoleh titer antibodi ND pada kontrol signifikan lebih tinggi dibandingkan dengan perlakuan yang diberikan jamu dosis 200 mg per ekor/hari dan 400 mg per ekor/hari sedangkan perbandingan titer antibodi pada semua perlakuan lainnya tidak berbeda secara signifikan. Hal ini menunjukkan pemberian jamu menghasilkan titer antibodi lebih rendah dari kontrol. Kesimpulan dari hasil penelitian ini adalah jamu daun ashitaba tidak dapat meningkatkan titer antibodi ayam kampung.

Kata kunci: ayam kampung; jamu daun ashitaba; titer antibodi; penyakit tetelo

ABSTRACT

This research aims to study the effect of giving daun ashitaba (*Angelica keiskei*) herbal medicine against *Newcastle disease* antibody titers in kampung chickens. The object of the study were 25 male kampung chickens that were reared from 1-35 days old with five treatments, namely: the control group without herbal medicine and four groups were given herbal medicine at a dose of 50 mg per head/day; 100 mg per head/day; 200 mg per head/day; and 400 mg per head/day. Vaccination of *Newcastle disease* active La Sota is done on day 21. The serum is taken three times, namely: pre-vaccination (age 18 days), week 1, and week 2 post-vaccination for hemagglutination and hemagglutination trials. The results of the ND antibody titer in kampung chickens were given an herbal dose of 50 mg per head/day; 100 mg per

head/day; 200 mg per head/day; and 400 mg per head/day is 5.00 ± 3.80 HI log₂; 4.27 ± 3.31 HI log₂; 4.07 ± 3.63 HI log₂; 3.67 ± 2.35 HI log₂; and 3.73 ± 2.89 HI log₂. The results showed that antibody titers in the control group were significantly higher than those in the 200 mg dose per head/day and 400 mg per head/day compared to antibody titers in all other groups that were not significantly different. This shows that antibody administration is lower than control. The conclusion from the results of this study is that daun ashitaba herbal medicine leaves cannot increase the antibody titer of kampung chicken.

Keywords: kampung chicken; daun ashitaba leaf herbal medicine; antibody titer; *Newcastle Disease*

PENDAHULUAN

Penyakit tetelo atau *Newcastle Disease* (ND) merupakan salah satu penyakit infeksius telah menyebabkan kerugian ekonomi yang besar pada peternakan unggas (Amir *et al.*, 2014). Penyakit tetelo dapat menimbulkan morbiditas dan mortalitas yang tinggi (mencapai 100%), waktu penyebarannya yang cepat dan bersifat kompleks, sehingga menunjukkan adanya variasi dalam bentuk dan keparahan penyakit. Penyakit tetelo adalah penyakit endemik di Indonesia ditandai dengan kejadian penyakit sepanjang tahun (Tabbu, 2000).

Program yang telah dilakukan pemerintah adalah untuk mencegah munculnya penyakit tetelo, salah satunya melalui tindakan vaksinasi. Vaksinasi adalah metode paling efektif untuk pencegahan penyakit tetelo. Frekuensi vaksinasi penyakit tetelo bertujuan untuk mencegah penyakit tetelo, namun fakta di lapangan penyakit tetelo masih kerap terjadi pada unggas yang telah di vaksinasi (Dharmayanti *et al.*, 2014). Salah satu faktor penyebab merebaknya penyakit tetelo adalah tidak dilakukannya vaksinasi penyakit tetelo pada ayam kampung. Titer antibodi yang rendah tidak dapat melindungi unggas dari penyakit tetelo. Ada bahan-bahan yang dapat meningkatkan kerja komponen sistem imun dan diperlukan. Bahan tersebut mampu memodulasi sistem imunitas dengan berperan memperbaiki ketidakseimbangan sistem pertahanan tubuh, peningkatan produksi antibodi, peningkatan respons imun seluler, dan peningkatan kemampuan fagositik makrofag yang menghasilkan peningkatan resistensi terhadap infeksi bakteri dan virus (Amir *et al.*, 2014).

Beberapa jenis tanaman obat dapat dijadikan alternatif dalam pencegahan dan pengobatan penyakit pada hewan. Pemanfaatan senyawa bahan alam perlu dioptimalkan, maka dari itu dalam penelitian ini digunakan daun ashitaba sebagai bahan yang berperan sebagai imunostimulator. Daun ashitaba merupakan tanaman yang berasal dari Pulau Hachijo daerah tropis di Jepang. Daun ashitaba di Indones dapat tumbuh dengan subur di daerah yang bersuhu dingin, salah

satunya yaitu di Desa Sembalun, Kecamatan Sembalun, Kabupaten Lombok Timur dengan ketinggian daratan mencapai 1.200 meter diatas permukaan laut (Swarayana *et al.*, 2012).

Daun ashitaba mengandung klorofil cukup tinggi sehingga dapat meningkatkan produksi darah serta meningkatkan sistem imunitas tubuh dalam melawan berbagai penyakit infeksi dan kanker. Tanaman daun ashitaba bagian daun, batang maupun umbi tanaman jika dipotong akan mengeluarkan getah berwarna kuning yang disebut *chalcones* (Ogawa *et al.*, 2005). *Chalcones* termasuk dalam golongan senyawa flavonoid yang bermanfaat untuk meningkatkan produksi sel darah merah, produksi hormon pertumbuhan serta meningkatkan pertahanan tubuh untuk melawan penyakit infeksi (Hida, 2007). Penelitian membuktikan secara laboratorik senyawa flavonoid dalam daun ashitaba dapat meningkatkan produksi interleukin-2 (IL-2) dan meningkatkan proliferasi dan diferensiasi limfosit T, limfosit B dan sel *Natural Killer/NK* (Saifulhaq, 2009).

Flavonoid dapat memengaruhi respons sistem imun dan memiliki efek imunstimulator (Middleton *et al.*, 2000). Flavanoid berperan dengan cara meningkatkan aktivitas IL-2 dan proliferasi limfosit. Sel CD4+ akan mempengaruhi proliferasi limfosit kemudian menyebabkan sel Th1 teraktivasi. Sel Th1 yang teraktivasi akan mempengaruhi SMAF (*specific makrofag activating factor*), yaitu molekul molekul termasuk IFN- γ yang dapat mengaktifkan makrofag (Rauf, 2016).

Potensi yang dimiliki oleh daun ashitaba besar dalam meningkatkan sistem imunitas, maka tujuan penelitian ini adalah untuk melihat pengaruh pemberian jamu daun ashitaba secara oral dengan dosis bervariasi terhadap titer antibodi ayam kampung yang divaksin penyakit tetelo.

METODE PENELITIAN

Bahan-bahan yang digunakan dalam penelitian ini sebagai berikut: jamu daun ashitaba, ayam kampung yang dipelihara selama 35 hari sebanyak 25 ekor ayam kampung jantan dengan berat rata-rata 35 gram, vaksin penyakit tetelo aktif yaitu ND La Sota, pakan ayam berupa pakan komplit, air minum, serum darah ayam kampung, antigen ND, PBS (*phosphate buffered saline*), alkohol 70%, aquades steril, suspensi eritrosit 1%, kapas, makser, *handglove*.

Peralatan yang digunakan adalah sebagai berikut: kandang (250 cm x 60 cm x 50 cm), tempat pakan dan minum, timbangan, spuit 1 ml, rak tabung reaksi, sentrifugasi, gelas beker 100 ml, *microplate V*, *micropipet* ukuran 25 μ dan 50 μ , labu *erlenmeyer* 100 ml, pipet, mikrosaker, tabung eppendorf, *coolbox*, *refrigator*.

Pembuatan jamu daun ashitaba menerapkan standar Cara Pembuatan Obat Tradisional yang Baik (CPOTB) yang dikeluarkan oleh Badan Pengawas Obat dan Makanan (BPOM). Daun ashitaba yang dipilih adalah daun berwarna hijau tua, utuh, dan segar. Langkah selanjutnya dikumpulkan lalu dicuci dengan air, dikering anginkan, setelah kering dihancurkan (dirajang) kemudian dihaluskan dengan blender. Daun ashitaba yang telah berbentuk bubuk halus ditempatkan dalam wadah. Daun ashitaba yang telah berbentuk bubuk halus ditimbang ke dalam 4 dosis yang berbeda, yakni 50 mg per ekor/hari; 100 mg per ekor/hari; 200 mg per ekor/hari; dan 400 mg per ekor/hari.

Penelitian ini menggunakan 25 ekor ayam kampung jantan DOC (*day old chick*), dibagi menjadi lima perlakuan yang terdiri dari lima ekor ayam. Pemberian jamu daun ashitaba dilakukan dengan lima tingkat dosis yang bervariasi. Tingkatan dosis tersebut didasarkan atas laporan Adinata (2012). Kontrol negatif (P0) tanpa diberikan jamu daun ashitaba namun diberikan air minum secara *ad libitum*, (P1) diberikan jamu daun ashitaba 50 mg per ekor/hari, (P2) diberikan jamu daun ashitaba 100 mg per ekor/hari, (P3) diberikan jamu daun ashitaba 200 mg per ekor/hari, dan (P4) diberikan jamu daun ashitaba 400 mg per ekor/hari.

Adaptasi dengan memberikan pakan dan air minum pada ayam kampung secara *ad libitum* pada minggu pertama dilakukan. Pemberian jamu daun ashitaba melalui air minum diberikan pada hari ke-7 sampai hari ke-20 secara oral melalui air minum sesuai kelompok perlakuan. Pengambilan darah pravaksinasi melalui vena *brachialis* dilakukan pada hari ke-18 penelitian. Ayam kampung diinduksi dengan vaksin aktif penyakit tetelo pada hari ke-21. Langkah selanjutnya memberikan pakan dan air minum pada ayam kampung secara *ad libitum* setiap hari sampai hari ke-28 secara oral sesuai kelompok perlakuan. Pengambilan darah ayam kampung sebanyak 1 mL pada kelompok kontrol negatif dan kontrol positif untuk kemudian diperiksa titer antibodinya pada hari ke-28 dan hari ke-35.

Pengambilan darah ayam kampung dilakukan pada hari ke-18, ke-28 dan ke-35 penelitian. Darah diambil dari vena *brachialis* dengan menggunakan spuit 1 mL tanpa antikoagulan. Darah dibiarkan membeku dalam suhu kamar sampai serumnya keluar. Serum yang masih bercampur dengan sel darah merah dimasukkan ke dalam tabung Eppendorf steril kemudian disentrifugasi dengan kecepatan 2500 rpm selama 10 menit. Bagian supernatan dimasukkan ke dalam tabung Eppendorf yang baru untuk mendapatkan serum (Suardana *et al.*, 2009).

Tingkat kekebalan suatu hewan dapat diketahui melalui pengukuran titer antibodi dengan uji HI titrasi. *Microplate* dasar U diisi dengan 0,025 mL PBS pada setiap lubang (1-12), lubang pertama dan kedua diisi dengan serum yang selanjutnya diencerkan secara seri kelipatan dua dari lubang kedua sampai kesepuluh dengan *microdiluter*. Lubang (1-11) ditambahkan 0,025 mL suspensi antigen 4 unit HA, sedangkan pada lubang 12 hanya diisi 0,025 mL PBS kemudian digoyang-goyangkan seperti diayak selama 30 detik dan diinkubasikan dalam suhu kamar selama 30 menit. Lubang (1-12) ditambahkan 0,05 mL suspensi eritrosit 1 % dan digoyang-goyangkan seperti diayak kembali selama 30 detik. *Microplate* diinkubasikan pada suhu kamar selama 1 jam dan diamati setiap 15 menit untuk mengetahui ada tidaknya reaksi aglutinasi eritrosit. Hasil uji HI positif ditandai dengan adanya endapan pada dasar *microplate* atau tidak ada aglutinasi (Suardana *et al.*, 2009).

Untuk mengetahui perbedaan titer antibodi ayam kampung pada masing-masing dosis yang diberikan, maka data hasil pemeriksaan ditabulasi dan dianalisis secara deskriptif dengan menggunakan uji sidik ragam menggunakan software SPSS v.22 yang dilanjutkan uji Duncan.

Pengamatan dan pemeliharaan ayam kampung dilaksanakan di Desa Kediri, Kecamatan Kediri, Kabupaten Tabanan, Bali. Penelitian dilakukan di Laboratorium Farmakologi dan Farmasi Veteriner, Laboratorium Virologi Veteriner Fakultas Kedokteran Hewan Universitas Udayana serta Balai Besar Veteriner Denpasar dilaksanakan pada Januari 2020 - Februari 2020.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Rerata titer antibodi ND pada kontrol signifikan lebih tinggi ($P < 0,05$) dibandingkan dengan P3 dan P4. Perbandingan titer antibodi pada P1, P2, P3 dan P4 tidak berbeda secara signifikan

($P>0,05$). Hasil analisis menunjukkan tidak ada perbedaan nyata ($P>0,05$) pada titer antibodi ND antara kelompok yang diberikan jamu daun ashitaba dengan berbagai variasi dosis. Perlakuan yang tidak diberi jamu daun ashitaba merupakan perlakuan dengan rerata titer antibodi tertinggi sedangkan P3 merupakan perlakuan dengan rerata titer antibodi terendah. Tabulasi hasil penelitian seperti pada Tabel 1.

Tabel 1. Rerata titer antibodi ayam kampung yang diberi jamu daun ashitaba terhadap penyakit tetelo berdasarkan waktu pengambilan serum dan dosis (HI log 2)

Dosis jamu (mg per ekor/hari)	Prevaksinasi Rerata (\pm SD)	Minggu-1 Pascavaksinasi Rerata (\pm SD)	Minggu-2 Pascavaksinasi Rerata (\pm SD)	Total Rata-rata
(P0) Kontrol	2,00 \pm 1,00	10,00 \pm 0,00	3,00 \pm 1,41	5,00 \pm 3,80 ^a
(P1) 50	2,20 \pm 0,84	8,20 \pm 2,39	2,40 \pm 1,67	4,27 \pm 3,31 ^{ab}
(P2) 100	1,80 \pm 0,45	9,00 \pm 0,00	1,40 \pm 0,55	4,07 \pm 3,63 ^{ab}
(P3) 200	3,20 \pm 1,64	6,40 \pm 0,55	1,40 \pm 0,55	3,67 \pm 2,35 ^b
(P4) 400	3,00 \pm 1,87	7,20 \pm 0,84	1,00 \pm 0,00	3,73 \pm 2,89 ^b

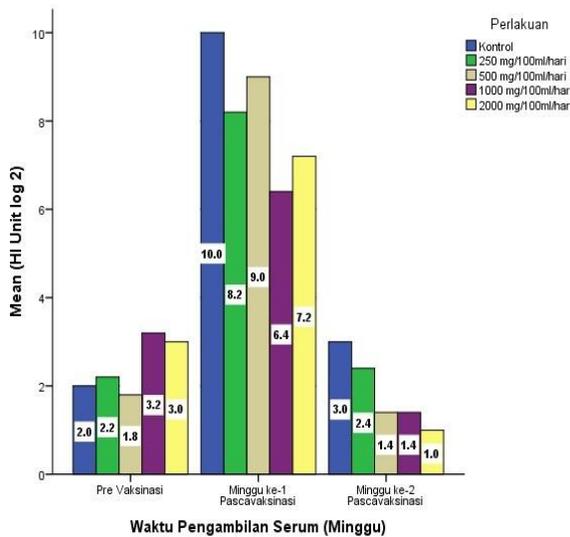
Keterangan: Huruf (superskrip) yang berbeda menunjukkan berbeda nyata ($P<0.05$), sebaliknya huruf (superskrip) yang sama menunjukkan tidak berbeda nyata ($P>0.05$)

Hasil pemeriksaan rerata titer antibodi penyakit tetelo melalui uji HI pada ayam kampung melalui tiga kali pengambilan serum (prevaksinasi, minggu ke-1 dan minggu ke-2 pascavaksinasi) sebagai berikut: P0 adalah 5,00 \pm 3,80; P1 adalah 4,27 \pm 3,31; P2 adalah 4,07 \pm 3,63; P3 adalah 3,67 \pm 2,35; P4 adalah 3,73 \pm 2,89. Hasil penelitian menunjukkan pemberian jamu daun ashitaba menghasilkan titer antibodi yang lebih rendah dari kontrol. Tidak ada perbedaan nyata titer antibodi antara semua perlakuan ($P>0,05$). Perbedaan variasi pemberian dosis jamu daun ashitaba tidak berpengaruh terhadap jumlah titer antibodi pada ayam kampung yang diuji.

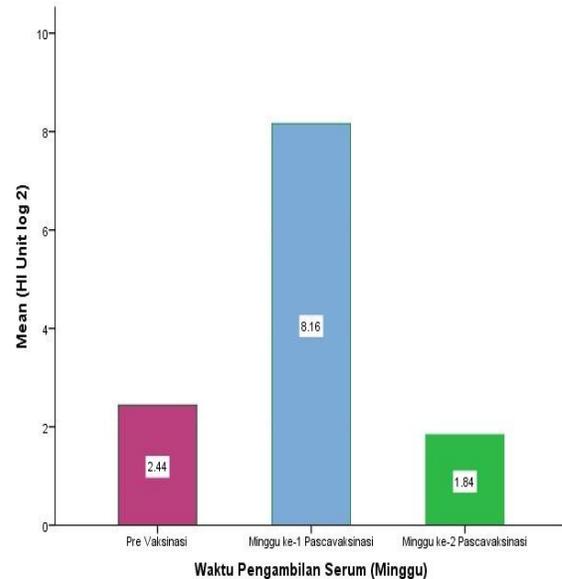
Hasil penelitian yang diperoleh dalam penelitian ini berbeda dengan pendapat Sembiring *et al.*, (2018) pemberian formula herbal yang mengandung daun ashitaba sebanyak 40%, gotucola 20%, jahe merah 10%, kunyit jawa 20% dan jahe biru 10% pada semua kelompok perlakuan menunjukkan imunitas yang lebih baik sehingga formula herbal tersebut dapat berperan sebagai immunomodulator. Penambahan bahan-bahan asal alam seperti daun ashitaba telah dikenal manfaatnya pada ternak dan telah diteliti sebagai *feed additive*, *feed suplement*, dan *growth*

promoter terhadap performa ayam, akan tetapi manfaat mengenai respon daya protektifitas jamu daun ashitaba terhadap ayam yang divaksinasi ND belum banyak diteliti (Yuliani *et al.*, 2003).

Faktor-faktor yang memengaruhi titer antibodi yang dihasilkan diantaranya dosis dan tanggap kebal individu yang berbeda. Hal yang menyebabkan titer antibodi perlakuan lebih rendah dari kontrol karena jamu daun ashitaba diberikan secara oral melalui air minum pada ayam kampung umur 2-3 minggu. Anak ayam akan mudah stres apabila mendapatkan perlakuan yang berbeda dengan yang semestinya dia peroleh. Pemberian jamu daun ashitaba pada air minum akan mengakibatkan perubahan rasa menjadi pahit pada air minumnya yang mengakibatkan berkurangnya volume minum ayam. Pengurangan volume minum dapat menyebabkan dehidrasi dan kemungkinan ayam menjadi stress.



Gambar 1. Diagram batang rerata titer antibodi berdasarkan waktu pengambilan serum dan dosis.



Gambar 2. Diagram batang rerata titer antibodi berdasarkan waktu pengambilan serum.

Ayam yang mengalami *heat stress* menyebabkan melemahnya sistem pertahanan tubuh. Stres dapat mempengaruhi sel limfosit melalui produksi hormon kortisol. Kortisol akan memodulasi sistem imun dengan menghambat produksi *Interleukin-1* (IL-1) dari makrofag dan *Interleukin-2* (IL-2) dari sel T. Penurunan respons sel T kemudian terjadi dengan berkurangnya

populasi sel T-helper. Hal ini menyebabkan berkurangnya sel B maupun sel plasma, sehingga terjadi penurunan produksi antibodi yang menyebabkan rendahnya titer antibodi pada ayam (Yuliani *et al.*, 2003). Rasa pahit pada jamu daun ashitaba menyebabkan waktu konsumsi menjadi lebih panjang sehingga dapat berpengaruh terhadap kerusakan senyawa aktif pada daun ashitaba karena lebih lama terpapar sinar matahari dibandingkan dengan kelompok kontrol.

Titer antibodi pada ayam yang divaksinasi penyakit tetelo dan diberi perlakuan jamu daun ashitaba dengan dosis yang bervariasi belum sepenuhnya mengalami peningkatan, hal ini dapat disebabkan variasi dosis masing-masing volume perlakuan yang mengandung senyawa aktif jamu daun ashitaba belum mencapai target organ limfoid sebagai penghasil imunitas yang tinggi. Penelitian Nurkholis *et al.* (2014) menyatakan bahwa ayam yang mengalami stress memicu berkurangnya sekresi hormon tiroksin sehingga mengganggu proses metabolisme dan penyerapan nutrisi pada saluran cerna. Hal ini dapat menyebabkan penyerapan senyawa *chalcone* pada daun ashitaba menjadi tidak maksimal. Jamu daun ashitaba diberikan secara oral melalui air minum pada ayam kampung umur 2-3 minggu.

Durasi waktu pemberian jamu daun ashitaba pada ayam kampung yang berumur 2-3 minggu dapat dikatakan tidak efektif. Jamu daun ashitaba yang mengandung senyawa *chalcone* tidak mampu menggerakkan sistem imunitas ayam. Hal ini disebabkan karena bursa fabrisius yang merupakan organ limfoid primer ayam berperan sebagai tempat pendewasaan dan diferensiasi sel limfosit B yang menerima dan memberi reaksi terhadap benda asing yang masuk ke dalam tubuh baru berkembang sepenuhnya pada umur 5-7 minggu (Karel *et al.*, 2012). Jamu daun ashitaba belum mampu memengaruhi organ limfoid sebagai penghasil imunitas. Belum terdapat penelitian sampai saat ini mengenai rentangan dosis pasti untuk pemberian ramuan herbal secara oral dalam menggerakkan sistem imunitas ayam (Yuliani *et al.*, 2003).

Peningkatan titer antibodi penyakit tetelo sangat nyata pada minggu ke-1 pascavaksinasi ($P < 0,01$) sedangkan pada minggu ke-2 pascavaksinasi mengalami penurunan dan rerata titer pada minggu ke-2 berada di bawah nilai ambang protektif terhadap penyakit tetelo. Respons antibodi yang tinggi terjadi pada minggu ke-1 pascavaksinasi. Hasil ini menemukan bahwa ayam yang divaksinasi menghasilkan titer antibodi yang lebih tinggi pada hari ke-7 pasca vaksinasi, dan mengalami penurunan jumlah titer antibodi pada hari ke-14 dan hari ke-21 pasca vaksinasi.

Titer antibodi yang terbentuk pada unggas yang divaksinasi penyakit tetelo dengan vaksin aktif membentuk antibodi lebih cepat tetapi titer antibodinya lebih rendah dan cepat menurun daripada kadar antibodi yang terbentuk dari unggas yang divaksinasi dengan vaksin penyakit tetelo inaktif (Hewajuli dan Dharmayanti, 2015).

SIMPULAN

Pemberian jamu daun ashitaba menurunkan titer antibodi ayam kampung terhadap penyakit tetelo.

SARAN

Perlu dilakukan penelitian lebih lanjut mengenai peran daun ashitaba sebagai zat yang dapat berperan sebagai imunostimulator pada umur unggas yang lebih dewasa dengan lama waktu pemberian, cara pemberian dan berbagai tingkat dosis yang berbeda.

UCAPAN TERIMA KASIH

Peneliti mengucapkan terimakasih kepada seluruh pihak yang telah membantu dalam penyelesaian penelitian ini.

DAFTAR PUSTAKA

- Adinata MO, Sudira IW, Berata IK. 2012. Efek ekstrak daun ashitaba (*angelica keiskei*) terhadap gambaran histopatologi ginjal mencit (*mus musculus*) jantan. *Buletin Veteriner Udayana* 4(2) : 55-62.
- Amir S, Ahmad T, Umer M, Rehman A, Hussain Z. 2014. Prevention and control of new castle disease. *International Journal of Agriculture Innovations and Research* 3: 454-460
- Dharmayanti NLPI, Hartawan R, Hewajuli DA, Indriani R. 2014. Phylogenetic analysis of genotype VII of new castle disease virus in Indonesia. *Afric J Microbiol Res* 8(13): 1368-1374.
- Hewajuli DA, Dharmayanti NLPI. 2015. Peran sistem kekebalan non-spesifik dan spesifik pada unggas terhadap *newcastle disease*. *Wartazoa* 25(3): 135-146.
- Hida K. 2007. Daun ashitaba (*Angelica keiskei*) A Medical Plant and Health Method. <http://www.organicdaunashitaba.com/articles.html>. Tanggal akses 06 Juni 2019.
- Karel AS, Kaspers B, Kaiser P. 2012. *Avian Immunology*. New York: Academic Press. Pp 13.

- Middleton E, Kandaswami C, Theoharides TC. 2000. The effects of plant flavonoids on mammalian cells: implications for inflammation, heart disease, and cancer. *ASPET JOURNAL* 52: 673-751.
- Nurkholis DR, Tantalo S, Santosa, PE. 2014. Pengaruh pemberian kunyit dan temulawak melalui air minum terhadap titer antibodi AI, IBD, dan ND pada broiler. *Jurnal Ilmiah Peternakan Terpadu* 2(2): 37-43.
- Ogawa, Casasch, Rant GC, Fatimawali, Wehantouw F. 2005. Uji efektivitas ekstrak flavonoid dan steroid dari gedi (*abelmoschus manihot*) sebagai anti obesitan dan hipolipidemik pada tikus putih jantan galur wistar. *Jurnal Ilmiah Farmasi Unsrat* 2(2): 34-38.
- Rauf A, Haeria, Anas DD. 2016. Efek imunostimulan fraksi daun katuk (*sauropus androgynus l. merr.*) terhadap aktivitas dan kapasitas fagositosis makrofag pada mencit jantan (*mus musculus*). *Jurnal FIK Unam* 4(1): 9-15.
- Saifulhaq M. 2009. Pengaruh pemberian ekstrak buah mahkota dewa dosis bertingkat terhadap proliferasi limfosit lien pada mencit BALB/C. *Biomedika* 1(2): 33.
- Sembiring BB, Wiedosari E, Sujianto. 2018. The effect of jamu formulas on body weight, antioxidant activities, and antibodi titer in chicken. *Jurnal Littri* 24(2): 65-74.
- Suardana IBK, Dewi NMRK, Mahardika IGNK. 2009. Respon imun itik bali terhadap berbagai dosis vaksin avian influenza H5N1. *Jurnal Veteriner* 10(3): 150-15.
- Swarayana IMI, Sudira IW, Berata IK. 2012. Perubahan histopatologi hati mencit (*mus musculus*) yang diberikan ekstrak daun ashitaba (*Angelica keiskei*). *Buletin Veteriner Udayana* 4(2): 119-125.
- Tabbu CR. 2000. *Penyakit Ayam dan Penanggulangannya: Penyakit Bakterial, Mikal, dan Viral*. Yogyakarta: Kanisius.
- Yuliani SN, Sakan GYI. 2003. Respon Titer Antibodi Pada Ayam Broiler Yang Divaksinasi ND dan Diberi Herbal Rempah. *Partner*. 2: 696-704.